

Puissance, sélection et rapidité d'action
de la diatomée marine *Chaetoceros calcitrans* Paulsen
face aux lipides de son environnement :
sa réaction à un hydrocarbure marqué, le dotriacontane-16-17¹⁴C

Jean-Luc BOUTRY *

RÉSUMÉ. — Les résultats les plus significatifs d'une série de 7 travaux sur les échanges en lipides entre la diatomée *Chaetoceros calcitrans* Paulsen et son environnement sont rappelés afin de montrer la puissance et la rapidité d'action de l'algue sur les lipides de l'eau de mer : l'importance de son apport en acide gras C 20:0 et en méthylène-24 cholestérol sous l'influence des rayons ultraviolets, la rythmicité des échanges en lipides totaux qu'elle assume sous éclairage comme en obscurité, et sa consommation sélective en hydrocarbures sont soulignés.

ABSTRACT. The results most significant of seven experiments dealing on lipids exchanged between the diatom *Chaetoceros calcitrans* Paulsen and its surroundings are recalled to prove power and rapid effect of the algae on lipids of sea water : increase of fatty acid C 20:0 and of 24-methylene cholesterol in the medium through the agency of the diatom under ultra violet irradiation, definite rhythm followed by the exchanges of total lipids, and selective taking off hydrocarbons of medium by algae are laid stress on.

Après avoir montré en ce qui concerne les lipides (BOUTRY & BARBIER, 1974; BOUTRY *et al.*, 1976a, b; 1977a) que l'hétérotrophie joue un rôle important dans le développement de la diatomée planctonique marine *Chaetoceros calcitrans* Paulsen, nous avons mis en évidence deux voies métaboliques de l'hétérotrophie lipidique à l'aide de cholestérol-4¹⁴C (BOUTRY *et al.*, 1978), puis à l'aide de dotriacontane-16-17¹⁴C (BOUTRY *et al.*, 1977b), dissous dans le milieu de culture de l'algue, ainsi que la rapidité de ces phénomènes d'échanges et transformations lipidiques au cours d'une étude dynamique (BOUTRY & BORDES, 1979).

Cet exposé regroupe certains des résultats les plus représentatifs de ces travaux pour tenter de faire ressortir la puissance et la rapidité d'action de la diatomée *Chaetoceros calcitrans* Paulsen dans le milieu marin : quel rôle peuvent

* Laboratoire de Biochimie, I.U.T., La Rochelle 17000.

Communication présentée au 1er Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française, Paris, janvier 1980.

Cryptogamie : Algologie, 1980, 1, 4: 349-354.

jouer les diatomées planctoniques marines en ces jours de pollution pétrolière, et nous est-il permis d'évaluer leur puissance d'épuration chimique à l'aide des résultats des travaux précités ?

L'homme a toujours coutume de ramener les conditions physiques, chimiques et biologiques du monde qui l'entoure à lui-même, et de juger comme étant bon pour l'Univers ce qui est bon pour l'organisme humain. Cette orientation psychologique lui donne souvent raison quand il considère le règne animal, surtout quand il le limite aux mammifères terrestres ou aquatiques : il n'en va plus de même quand l'homme applique ses définitions de « pollution chimique et biologique » aux autres animaux, et surtout au règne végétal dont il vit plus ou moins directement.

Nos travaux nous ont montré qu'un hydrocarbure qui, lorsqu'il est présent en grande quantité dans l'eau de mer ou à sa surface, est à coup sûr un élément néfaste pour les pêcheurs (oiseaux ou hommes), pour les ostréiculteurs et les baigneuses, n'est par contre qu'un aliment apprécié pour certaines diatomées planctoniques marines.

Cultivée durant 12 jours, en éclairage nycthéral ou continu, éclairage additionné ou non d'irradiations ultraviolettes (BOUTRY & BARBIER, 1974; BOUTRY *et al.*, 1976a, b) la diatomée *Chaetoceros calcitrans* nous a donné de très nombreuses mesures des quantités d'acides gras, de stérols et d'hydrocarbures qu'elle consomme, qu'elle apporte, ou qu'elle échange avec le milieu où elle vit. Examinons certaines de ces mesures :

En ce qui concerne les acides gras : les irradiations ultraviolettes induisent la biosynthèse de l'acide C 20:0 dans la diatomée qui en apporte 8% de sa production totale au milieu qui en est dépourvu à l'origine. Or les études de MARTY et SALIOT (1974) sur les acides gras de l'eau de mer en fonction de la profondeur montrent que le C 20:0 n'est surtout présent que dans l'eau de mer de surface : 0,14 à 0,06 $\mu\text{g/l}$ au lieu de 0,02 $\mu\text{g/l}$ pour celle de profondeur. Aussi est-il tentant de supposer que l'acide gras de C 20:0 présent dans l'eau de mer de surface est synthétisé par les diatomées du phytoplancton qui, sous l'influence de la lumière ultraviolette y libèreraient 8% de leur production de cet acide : soit 17 $\mu\text{g/l}$ dans la culture étudiée (poids sec de diatomées 106 mg/l). La sélectivité active de la membrane cellulaire de *C. calcitrans* est certaine puisque l'algue se montre capable de contenir l'acide C 17:2, à raison de 2,5% de ses acides gras, et d'en laisser dépourvue l'eau de mer de culture, et aussi puisqu'elle prélève 37% du C 13:0 et 56% du C 15:1 du milieu de culture, alors qu'elle-même n'en contient pas (ce qui prouve aussi qu'elle utilise ces derniers).

En ce qui concerne les stérols : la proportion du méthylène-24 cholestérol double sous l'influence des rayons ultraviolets (+119% et +86%) dans l'algue qui en apporte 22% de sa production totale à l'eau de mer où elle vit, ce qui, dans l'expérience, augmente de 1394% la quantité de ce stérol dans l'eau de mer de culture. Les résultats obtenus par SALIOT et BARBIER (1973) sur l'analyse des stérols de l'eau de mer montrent que sa concentration en méthylène-24 cholestérol diminue avec la profondeur (de 2,15 $\mu\text{g/l}$ en surface à 0,2-0,6 $\mu\text{g/l}$ en profondeur). On peut donc se demander si le méthylène-24 cholestérol de l'eau

de mer n'est pas essentiellement biosynthétisé par les diatomées du phytoplancton proche de la surface qui, sous l'influence des ultraviolets, libèreraient 22% de ce stérol qu'elles produisent : soit 60 µg/l dans l'expérience pour un poids sec de diatomées de 106 mg/l. La sélection qualitative et quantitative des stérols par la diatomée apparaît là aussi : prélevant du milieu 30% du cholestérol et 8% du β sitostérol présents dans l'eau de mer, mais y augmentant les quantités de campestérol de 255%, et de stigmastérol de 20%.

L'importance en poids de ces apports, ou retraits, lipidiques spécifiques à l'activité biosynthétique de la diatomée *C. calcitrans* nous a poussé à reprendre ces études en ajoutant un lipide marqué au ^{14}C au milieu de culture durant une première phase de prolifération de 8 ou 9 jours, puis, en prélevant toute la récolte de diatomées vivantes suivant une technique nouvelle (BOUTRY & BORDES, 1978) et la mettant dans un milieu neuf non radioactif, d'analyser quels lipides de transformation l'algue produit et échange avec ce milieu neuf durant 8 ou 9 jours supplémentaires de culture.

Sans entrer dans le détail de ces études faites sous éclairage nyctéméral additionné de 2 irradiations en lumière ultraviolette par 24 h, soulignons les échanges en hydrocarbures effectués par la diatomée avec son milieu durant l'expérience témoin (BOUTRY *et al.*, 1977a), puis les échanges lipidiques lors de l'étude de capture du cholestérol- 4^{14}C (BOUTRY *et al.*, 1978), et lors de celle du dotriacontane-16-17 ^{14}C (BOUTRY *et al.*, 1977b) et de son étude dynamique de 24 h (BOUTRY & BORDES, 1979).

L'expérience témoin (2 cultures consécutives de 8 jours chacune) nous montre que la diatomée étudiée est grande consommatrice des hydrocarbures de l'eau de mer :

— de 0 à 8 jours elle consomme 90,2% des hydrocarbures totaux de l'eau de mer, dont 91% des aliphatiques, et parmi ces derniers préfère utiliser les C 18 et C 20 à C 25 : à ce stade elle ne rejette aucun hydrocarbure aliphatique dans le milieu;

— de 8 à 16 jours de culture la diatomée consomme 37,3% des hydrocarbures totaux dont 57% des aliphatiques, sa préférence parmi ces derniers étant alors pour les C 22, C 24, C 26, C 27, C 29 et C 33; elle rejette à ce deuxième stade les aliphatiques C 16, C 17 et post-C 26, post-C 29, post-C 32, dans l'eau de mer.

L'expérience de capture et métabolisme du cholestérol- 4^{14}C (2 cultures consécutives de 8 jours chacune) nous donne des preuves de la sélection membranaire de l'algue et de son métabolisme hétérotrophique :

— Si après 8 jours de prolifération en présence du cholestérol- 4^{14}C , 26,5% de la radioactivité de ce précurseur est dans l'extrait chloroformique de la diatomée, on y retrouve 29,1% de cette radioactivité initiale après 8 jours supplémentaires de culture dans un milieu neuf non radioactif : cette augmentation de 2,6% de radioactivité qui ne peut venir que des constituants de l'algue est un premier indice de l'utilisation du cholestérol par la diatomée pour synthétiser des produits non lipidiques durant la première étape de culture. Si nous rapprochons de cette observation les pertes de 85,8% et 91,1% de la radioactivité des lipides de l'algue après saponification pour les deux étapes de culture, nous avons bien

là des preuves de la capture et du métabolisme du cholestérol- 4^{14}C par *C. calcitrans* qui l'utilise dans la synthèse de molécules telles qu'acides aminés, protéines, sucres et glycérol (en partie extraits par le chloroforme).

Après les 8 premiers jours de prolifération on voit qu'après purification, les stérols, 3 hydrocarbures aliphatiques (surtout le C 32), et de nombreux acides gras (surtout le C 16:1) de l'algue sont marqués (mais pas l'acide C 20:0). Si les stérols du milieu usé sont marqués, ainsi que beaucoup de ses acides gras (surtout C 16:1 et C 16:0, mais aussi le C 20:0 justement examiné dans les études précédentes), aucun des hydrocarbures de cette eau de mer usée ne sont marqués.

Après les 8 jours de culture supplémentaire dans un milieu neuf non radioactif, et après purification, les stérols, 5 hydrocarbures aliphatiques (surtout les C 33 et C 32) et de nombreux acides gras (surtout les C 14:0 et C 16:1) de l'algue sont marqués (mais pas l'acide C 20:0). Là encore, si les stérols du milieu usé sont radioactifs ainsi que beaucoup de ses acides gras (surtout les C 16:0 et C 14:0, mais le C 20:0 ne l'est plus à cette étape), aucun des hydrocarbures de l'eau de mer usée ne sont marqués.

L'expérience de capture et métabolisme du dotriacontane-16-17 ^{14}C (2 cultures consécutives de 9 jours chacune) nous apporte de nouvelles preuves de l'hétérotrophie du métabolisme lipidique et de la sélection active de la membrane de la diatomée étudiée :

Si après 9 jours de culture en présence de l'hydrocarbure marqué, 24,9% de la radioactivité initiale est dans l'extrait chloroformique de *Chaetoceros calcitrans* Paulsen, on y retrouve 35,6% de cette radioactivité du dotriacontane-16-17 ^{14}C après 9 jours de culture supplémentaire dans un milieu neuf non radioactif, soit 10,7% d'augmentation : si l'on en rapproche les pertes de 78,1% et 52,4% de la radioactivité des lipides de l'algue après saponification pour les deux étapes de culture, nous avons là deux preuves du métabolisme de l'hydrocarbure C 32 par la diatomée qui l'utilise dans la synthèse de molécules hydrosolubles non étudiées ici : acides aminés, protéines, sucres, alcools, etc...

— La radioactivité mesurée dans les acides gras de l'algue (C 14:0, C 16:0, C 16:1 et C 18:1 sont marqués), dans ses stérols (0,01% puis 1,42% de la radioactivité du précurseur) et dans ses hydrocarbures (ou seul le C 32 est marqué) démontre une fois de plus l'existence de la capture et du métabolisme du dotriacontane du milieu par l'algue. Enfin, après chacune des deux étapes de culture, aucun stérol, aucun acide gras, aucun hydrocarbure de l'eau de mer usée ne se montre radioactif après purification : et comme tous les lipides étudiés ici ont leur taux respectif diminué dans le milieu par la diatomée après deux phases de culture, on peut voir en *Chaetoceros calcitrans* un consommateur sélectif efficace en hydrocarbures de l'eau de mer, et dont l'action est de surcroît rapide.

Action rapide, certes, et les résultats de notre étude dynamique (BOUTRY & BORDES, 1979) des échanges en lipides entre la diatomée et son milieu nous l'ont montré; nous retiendrons que :

1) Les échanges en lipides totaux entre la diatomée et son milieu suivent un rythme avec une période de 1 à 3 heures, en phase lumineuse comme en obscurité;

2) Après les premières 24 h de culture *Chaetoceros calcitrans* Paulsen peut laisser l'eau de mer utilisée enrichie en lipides totaux (de 116 mg à 118 mg/l, tout comme elle peut l'en avoir appauvrie de 3,25 mg/l (soit 0,11 mg/5 mg sec de diatomées);

3) C'est dans les 3 heures qui suivent la remise de l'éclairage qu'ont lieu de forts rejets de lipides dans le milieu par la diatomée (470 mg/l et 387 mg/l et 0,26 mg/5 mg sec de diatomées), mais ces rejets ne sont pas toujours les plus forts des premières 24 h (0,52 mg/5 mg sec de diatomées 9h1/2 après la remise d'éclairage);

4) Enfin, mise en présence de dotriacontane-16-17¹⁴C *C. calcitrans* assimile cet hydrocarbure et relâche dans l'eau de mer utilisée, avec ou sans transformation, davantage de lipides marqués durant la phase obscure.

Suivant ces derniers résultats, il semble que la culture se comporte comme une individualité à réponses pulsées, et, en accord avec POLISHCHUK (1977), il est probable qu'une telle rythmicité soit liée à une situation physico-chimique identique pour chaque cellule, à un moment donné, en face d'un état du milieu qui, finalement, est le même pour toutes. Les variations observées souligneraient ainsi une adaptation de l'ATP-ase membranaire assurant les transports actifs. Ce raisonnement fait immédiatement de la fonction d'absorption-excrétion un système complexe non aléatoire, véritable adaptation mécanique de la population du phytoplancton, pour obtenir un niveau optimum d'activité vitale dans la culture.

Chaetoceros calcitrans Paulsen, semble bel et bien capable de commander la composition en lipides de l'eau de mer qui environne sa colonie grâce à la puissance, à la rapidité et à la sélection de son activité biosynthétique. Recevant une partie de la lumière ultraviolette solaire, cette cellule synthétise l'acide gras C 20:0 dont elle donne 17 µg/l à l'eau de mer, à laquelle elle donne aussi 60 µg/l du méthylène-24 cholestérol qu'elle contient; la voilà qui peut larguer dans l'eau de mer jusqu'à 10% de son poids sec en lipides totaux, et qui réagit en 1 à 3 heures à tout bouleversement lipidique du milieu où elle vit; enfin la voilà qui capture un hydrocarbure radioactif et qui, après 9 jours de prolifération, laisse les hydrocarbures, les stérols et les acides gras de l'eau de mer non radioactifs!

Ces résultats, bien que se rapportant uniquement à l'étude des lipides d'une diatomée et du milieu où elle vit, montrent qu'il est nécessaire d'être prudents quant à nos conclusions sur les conditions «optima» nécessaires à l'équilibre du milieu marin dont nous dépendons.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOUTRY, J.-L. et M. BARBIER, 1974 — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. I. Relations avec le milieu de culture; étude de la fraction insaponifiable, des stérols et des acides gras. *Mar. Chem.* 2 : 217-227.
- BOUTRY, J.-L., M. BARBIER & M. RICARD, 1976 a — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. II. Effets de la lumière et des irradiations.

- tions ultraviolettes sur la production primaire et la biosynthèse des stérols. *J. exp. mar. Biol. Écol.* 21 : 69-74.
- BOUTRY, J.-L., M. BARBIER & M. RICARD, 1976b — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. III. Effets de la lumière et des irradiations ultraviolettes sur la biosynthèse des acides gras. *C.R. Acad. Sci. Paris* 28, D : 239-242.
- BOUTRY, J.-L. & M. BORDÈS, 1978 — Sur une méthode de récolte de diatomées vivantes après culture. *Experientia* 34, 3 : 415-416.
- BOUTRY, J.-L., M. BORDÈS, A. FÉVRIER & M. BARBIER, 1978 — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. VI. Capture et métabolisme du cholestérol. *J. exp. mar. Biol. Écol.* 33 : 113-118.
- BOUTRY, J.-L., M. BORDÈS, A. FÉVRIER, M. BARBIER & A. SALIOT, 1977a — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. IV. Relations avec le milieu de culture; étude des hydrocarbures. *J. exp. mar. Biol. Écol.* 28 : 41-51.
- BOUTRY, J.-L., M. BORDÈS, A. FÉVRIER & M. BARBIER, 1977b — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. V. Capture et métabolisme d'un hydrocarbure, le dotriacontane. *J. exp. mar. Biol. Écol.* 30 : 277-282.
- BOUTRY, J.-L. & M. BORDÈS, 1979 — La diatomée marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement. VII. Aspects dynamiques des échanges en lipides entre la diatomée et son milieu. *J. exp. mar. Biol. Écol.* 40 : 223-233.
- MARTY, J.-C. & A. SALIOT, 1974 — Étude chimique comparée du film de surface et de l'eau de mer sous-jacente : acide gras. *J. Rech. Atmosph.* : 563-570.
- POLISHCHUK, R.A., 1977 — Facts of absorption-excretory function rhythmicity in marine algae and their ecological interpretation. *Gidrobiol. Zh.* 13, 6 : 57-64 (en Russe).
- SALIOT, A. & M. BARBIER, 1973 — Sterols from sea water. *Deep-Sea Res.* 20 (12) : 1077-1082.